

Respostas dos Melanóforos de Traíra (*Hoplias malabaricus*) a vários excitantes

por

Erasmu G. Mendes

I.º Assistente

A. Introdução	285
B. O material e os métodos	287
C. Parte experimental	
1. Influência da luz	288
2. do substrato	289
3. da acetilcolina	291
4. da ergotamina	292
D. Discussão dos resultados	294
E. Summary	297
F. Bibliografia	299

A.

Introdução

O estudo da ação de substâncias melanóforo-ativadoras nos peixes ainda hoje fornece ensejo à discussão, dada a divergência e mesmo a contradição entre os vários pesquisadores. Tal se dá, por exemplo, com relação à ergotamina. Dessa substância utilizaram-se Spaeth e Barbour (1917) ao tratar, em *Fundulus heteroclitus*, do problema da dupla inervação dos melanóforos (simpática e parasimpática), com o fim de eliminar a ação das fibras simpáticas (concentradoras). Observaram, como consequência do seu emprego (tratava-se no caso do próprio centêio espigado),

a concentração melanofórica seguida de dispersão incompleta. A adrenalina, que em condições normais é melanóforo-concentradora, adicionada a seguir, causou dispersão máxima. Esta experiência foi repetida por Giersberg (1930, p. 260) que pretende ter elucidado o fato, admitindo que, nas condições experimentais, a adrenalina tinha encontrado como elementos excitáveis apenas as fibras parasimpáticas (dispersoras), visto as simpáticas se acharem inibidas pela atuação da ergotamina. Este mesmo autor (l. c., p. 263), em *Phoxinus phoxinus* mediante injeções de tartrato de ergotamina ("Gynergène" Sandoz), obteve dispersão dos pigmentos dos melanóforos, seguida de concentração. Aquí a ergotamina agiria primeiro sobre o simpático, inibindo-o, e a seguir sobre os próprios melanóforos diretamente. Dignas de nota são também as experiências de Duspiva (1931, pp. 577-579), em *Salmo salvelinus* Trabalhando com formas muito jovens e "embriões" (*) fez gotejar o "Gynergène" sobre um fragmento de cauda mantido em solução isotônica de NaCl ou sobre exemplares com extirpação prévia do saco vitelino. Em ambos os casos obteve forte concentração nos melanóforos. Pela adição de adrenalina, o máximo conseguido foi uma rápida, mas transitória, dispersão. Ultimamente, foi experimentada a influência da ergotamina sobre melanóforos desinervados. Assim, Bacq (1933), em *Ameiurus nebulosus* tendo desinervado previamente a porção central da nadadeira caudal de vários indivíduos por meio de secção do nervo respectivo, submeteu-os à ação do "Gynergène" Afirma o autor ter obtido concentração nos melanóforos da área desinervada e dispersão nos das regiões intatas. A primeira destas conclusões de Bacq foi recentemente refutada por Parker (1941). Realizando este autor, também em *Ameiurus* experiências mais completas, assinalou que Bacq fôra vítima de um engano visual relativamente à observação sobre o comportamento dos melanóforos desinervados sob a ação da ergotamina. Não conseguiu Parker revelar ação alguma dessa substância sobre estes melanóforos, embora procedesse de modo idêntico ao de Bacq. No entretanto verificou, tal como este autor, que a ergotamina opera a dispersão nos inervados. Para Parker este alcalóide teria ação indireta: excitaria um centro nervoso, cujos elementos, por sua vez, determinariam uma descarga de acetilcolina pelas terminações nervosas sobre os melanóforos.

Como se vê, são variadas as opiniões acerca da maneira pela qual a ergotamina age sobre os melanóforos dos peixes. Resumindo-as, teríamos:

1. Para Spaeth e Barbour a ergotamina é apenas paralisante das fibras simpáticas melanóforo-concentradoras. 2. Para Giersberg, além dessa ação

(*) É o termo usado pelo autor.

simpático-inibidora, há uma outra direta dispersora nos melanóforos. 3. Duspiva, o único a tratar do problema em formas muito jovens e embriões, afirma que a ergotamina é no caso, melanóforo-concentradora. 4. Bacq afirma que o alcalóide concentra os pigmentos dos melanóforos desinervados e dispersa os dos inervados, o que de certo modo lembra a opinião de Giersberg. 5. Parker, finalmente, opina que a droga atua indiretamente sobre os melanóforos, dispersando-lhes o pigmento, não tendo ação alguma sobre os mesmos quando se tornam desinervados.

A oportunidade de dispor de algumas traíras (*Hoplias malabaricus*) muito jovens, material relativamente resistente às operações e experimentações, tornou-me possível, por sugestão do Prof. P. Sawaya, o estudo da ação da ergotamina sobre os melanóforos desses peixes. Também foram experimentadas as influências de outros fatores. Em particular, devido ao fato de se comportarem as formas jovens de certos peixes de modo diverso ao dos adultos, com relação a vários agentes melanoforotrópicos, pareceu-me interessante tentar a verificação do fenômeno no material disponível. Poucas são as informações na literatura sobre este ponto. Com efeito, só encontrei as referências de Wenckebach (1886, p. 240) e de Duspiva (1931, p.p. 563-570). O primeiro, em embriões de *Pleuronectes* obteve dispersão dos pigmentos expondo os animais à luz e o segundo verificou que embriões e formas muito jovens de *Salmo salvelinus* e *Perca fluviatilis* dispersavam o pigmento dos melanóforos em presença da luz. Em ambos os casos destes autores, dá-se o contrário do que se observa nas formas adultas dos peixes em geral, os quais, desde que possuam olhos íntatos, reagem à luz concentrando os referidos pigmentos (von Frisch 1911; Bacq l. c.; Parker l. c. e outros).

B.

○ material e os métodos

Foram utilizadas traíras muito jovens, do comprimento de 6 a 11 mm., com a boca fechada e brânquias ainda não funcionantes. Como ponto de referência nas observações foram escolhidos os melanóforos das regiões: 1. nadadeira caudal, 2. região craniana, 3. saco vitelino, 4. flancos do terço médio da cauda. Como índices de expansão e contração destas células valí-me de algarismos romanos de I-V, à semelhança do que fez Sawaya (1939, p. 62) quando tratou da mudança de cor dos crustáceos: I para expansão máxima e V para a máxima contração. Os animais, provenientes de uma mesma desova, chegaram ao laboratório por especial obséquio dos Drs. Agenor

Couto de Magalhães e Pedro de Azevedo da Diretoria de Produção Animal, aos quais muito agradeço. Ficaram depositados em pequenos aquários de vidro com água da fonte contendo algumas Elodeas. Daí eram retirados e submetidos à ação dos vários agentes melanóforotrópicos. A ergotamina foi ministrada aos animais sob a forma de tartrato de ergotamina ("Gynergène" Sandoz) numa concentração máxima de 0,05%. A droga foi ora adicionada a uma quantidade conhecida de líquido (água de fonte) onde nadavam os animais, ora estes eram colocados em uma solução de 0,05%, conteúdo total de uma empola de "Gynergène". O cloridrato de acetilcolina Roche* foi usado em várias dissoluções, como será visto nas tabélas respectivas. Observadas as traíras ainda intatas, procedeu-se a operação para desinervação dos melanóforos de determinada região: seccionando com um golpe rápido de uma tesoura fina, sob a lupa Greenough, totalmente as vértebras e a medula, sempre um milímetro antes da ponta da cauda. Os exemplares em que a secção ultrapassava de muito o limite da medula foram desprezados. Após essa operação, a porção distal da cauda arqueava um pouco, abrindo os lábios da ferida, de onde saía durante algum tempo uma pequena quantidade de sangue que se coagulava em contato com o meio circunjacente. Não obstante, a circulação na área desinervada da cauda, distal ao norte, era preservada à custa dos capilares provenientes da *veia caudal*, conforme se vê no esquema publicado recentemente por Sawaya (1942, p. 169, figura). Naturalmente, após a intervenção, os animais passavam por um período de agitação, mas logo depois voltavam ao repouso. A locomoção, como era de esperar-se, ficou bastante prejudicada, deslocando-se os animais com dificuldade e à custa somente das nadadeiras peitorais. Quanto ao mais, mantiveram-se vários dias nesse estado, em boas condições de vitalidade, permitindo a observação da influência dos vários agentes empregados. Na preparação de ambientes claros, cinzentos ou escuros foram utilizados vidros de relógio, cujas faces convexas foram convenientemente pintadas.

C.

Parte experimental

1. **Influência da luz.** As traíras foram colocadas em ambientes claros, cinzentos e escuros. Um vidro de relógio pintado de branco e exposto à luz solar (difusa e direta) ou artificial serviu de ambiente claro. Dois vidros de

(*) Cumpre-me agradecer aos Exmos. Srs. representantes no Brasil dos Produtos Roche de Basilea, pelo fornecimento da acetilcolina, possibilitando estas investigações.

relógio, tornados translúcidos por uma leve camada de tinta cinzenta, um servindo de tampa, constituíram o ambiente cinza. Com um dispositivo análogo ao precedente, cobrindo-se as faces convexas dos vidros de relógio com espessa camada de tinta negra, obteve-se o ambiente escuro. Registraram-se os seguintes resultados:

TABELA I

Influência da luz sobre os melanóforos de *Hoplias malabaricus* (6-8 mm)

Horas	claro (testemunho)	cinza	negro
14,42	I	I	I
14,53	I	IV-V	III-IV
15,35	I	IV-V	III-IV
16,24	I	V	IV
16,27	I	Exposição à luz	
17,12	I	I	I

TABELA II

Influência da luz sobre os melanóforos de *Hoplias malabaricus* (6-8 mm)

Horas	claro (testemunho)	cinza	negro
9,56	I	I	I
10,22	I	II-III	I-II
10,40	I	III-IV	I-II

Como decorre do exame das tabelas I e II, reagem as traíras jovens à ausência de luz por uma forte contração dos melanóforos, sendo mesmo atingido o estado máximo de contração.

2. **Influência do substrato.** As experiências foram realizadas principalmente com exemplares medindo 10 a 11 mm. É importante assinalar esse fato por motivo que será mencionado na discussão dos resultados. Uma única experiência foi feita com animal medindo 7 mm. Foi o seguinte o protocolo das experiências com este exemplar de 7 mm.:

TABELA III

Influência do substrato sobre os melanóforos de *Hoplias malabaricus* de 7 mm.

Horas	Âmbiente	Estado dos melanóforos
10,1	vidro de relógio comum, à luz solar (difusa)	II-I
10,3	idem, forte iluminação	I
10,7	idem, idem	I
10,30	idem, idem	I
10,53	fundo e paredes negras, iluminado por cima	I
10,58	idem, idem	I
11,37	idem, idem	I
11,55	idem, idem	(levíssima concentração)

TABELA IV

Influência do substrato sobre os melanóforos de *Hoplias malabaricus* de 10-11 mms. Nos três casos, os animais provindos diretamente do aquário, possuíam melanóforos em grau IV-V

Horas	Fundo branco	Fundo cinza	Fundo negro
11,15	IV	IV	IV
11,35	IV-V	IV	II
11,51	IV-V	IV	I
12,00	IV-V	IV	I

TABELA V

Influência do substrato sobre os melanóforos de *Hoplias malabaricus* de 10-11 mms. Exemplos vindos diretamente do aquário com melanóforos em V.

Horas	Fundo branco	Fundo cinza	Fundo negro
14,18	V	V	V
14,45	V-IV	V-IV	I
15,10	V-IV	V-IV	I

A traíra de 7 mm., conforme se vê na tabela III, colocada em ambiente constituído por fundo e paredes negras, com iluminação superior, reagiu com levíssima concentração nos melanóforos. Os exemplares de 10-11 mm., submetidos à influência de substratos cinzento e negro, dispersaram fortemente o pigmento nos melanóforos (tabela IV e V).

3. Influência da acetilcolina.

TABELA VI

Influência da acetilcolina sobre os melanóforos de *H. malabaricus* (6-8 mm)

Horas	líquido	ambiente	melanóforos
11,29	água de fonte	cinzento	V
11,40	sol. 1×10^{-7} acetil. em água de fonte	idem	—
11,54	idem	idem	V

TABELA VII

Influência da acetilcolina sobre os melanóforos de *H. malabaricus* (6-8 mm)

Horas	líquido	ambiente	melanóforos
11,25	água de fonte	cinzento	V
11,45	sol. 1×10^{-6} acetil. em água de fonte	idem	—
11,55	idem	idem	V

TABELA VIII

Influência da acetilcolina sobre os melanóforos de *H. malabaricus* (6-8 mm)

Horas	líquido	ambiente	melanóforos
14,53	água de fonte	cinzento	V
15,35	sol. 1×10^{-3} acetil. em água de fonte	idem	V
15,42	idem	idem	V
15,50	idem	idem	V-IV
16,12	sol. 1×10^{-2} acetil. em água de fonte	idem	—
16,24	idem	idem	III-II

O cloridrato de acetilcolina, como denotam as tabelas VI, VII e VIII, quando usado em sol. 1×10^{-2} , operou a expansão dos melanóforos.

4. Influência da ergotamina.

Como o objetivo principal destas pesquisas era o de verificar a influência da ergotamina sobre os melanóforos intatos e desinervados, somente nesta série de experiências foram empregadas as traíras operadas.

a) Experiência com animais ílesos.

TABELA IX

Influência da ergotamina sobre os melanóforos de *H. malabaricus* (6-8 mm)

Horas	Líquido	ambiente	melanóforos
15,56 15,58	água de fonte sol. tartrato de ergo- tamina em água de fonte (0,01%)	cinzento	V
16,6 16,13	idem idem	idem idem	— III-II I

TABELA X

Influência da ergotamina sobre os melanóforos de *H. malabaricus* (6-8 mm)

Horas	Líquido	ambiente	melanóforos
17,7 17,13	água de fonte sol. de uma ampola de "gynérgene" (0,05%)	cinzento	V
17,26 17,55	idem idem	idem idem	— II-I I

As tabelas IX e X correspondem às observações dos animais intatos sob a ação da ergotamina. Das mesmas se depreende que a referida droga, em ambos os casos, teve ação melanóforo-dispersora.

b) Experiência em que a cauda foi separada do resto do corpo por meio do gálvano-cautério. -

TABELA XI

 Influência da ergotamina sobre os melanóforos de *H. malabaricus* (6-8 mm)

Horas	líquido	ambiente	melanóforos
10,3	água de fonte	cinzento	V
10,9	Secção da cauda		
10,12	corpo em água de fonte	cinzento	corpo: V cauda: V-IV
	cauda em sol. de NaCl a 0,07%		
10,20	idem	idem	corpo: V cauda: I
10,51	corpo e cauda em sol. de tartrato de ergotamina a 0,05%	idem	—
10,56	idem	idem	corpo: III-II cauda: I
11,10	idem	idem	idem

A tabela XI mostra que a cauda, separada do corpo e colocada em solução a 0,07%, de NaCl, quando submetida à ação do Gynérgene, não deu margem a que se observasse dispersão nos melanóforos.

c) Em animais operados com desinervação da região terminal da cauda, pelo emprego da ergotamina em sol. a 0,05%, foi observada dilatação melanofórica nas áreas inervadas e nenhuma alteração na região desinervada. Foi o seguinte um dos protocolos obtidos.

TABELA XII

 Influência da ergotamina sobre os melanóforos de *H. malabaricus* (6-8 mm)

Horas	líquido	ambiente	melanóforos
14,24	água de fonte	cinzento	V (reg. inervada) V (reg. desinervada)
14,56	idem	idem	V (ambas)
15,12	sol. ergotamina a 0,05%	idem	V (ambas)
15,14	idem	idem	III (reg. inervada) V (reg. desinervada)
16,12	idem	idem	sem alteração

Desinervando-se, com a técnica já apontada, os melanóforos do extremo caudal, verifica-se (tabela XII) não ter a ergotamina ação sobre os mesmos no momento próprio em que atua sobre os demais melanóforos do corpo normalmente inervados.

D.

Discussão dos resultados

Bacq e Parker, como já foi mencionado, obtiveram concentração melancólica pela exposição dos seus animais em ambiente claro iluminado. O segundo desses autores registrou dispersão média em ambiente cinzento, e, nos indivíduos tornados cegos, observou dispersão máxima nos melanóforos. Pouchet (cit. de Duspiva, l. c., p. 561) foi o primeiro a notar a função pigmento-motora dos olhos, nos peixes, cabendo a von Frisch (1911) porém, a análise pormenorizada da função desses órgãos. A luz opera a concentração nos melanóforos de indivíduos adultos de olhos intatos. Já foi visto, na introdução deste trabalho, que Wenckebach, e Duspiva, pelo que me foi dado ver na literatura consultada, foram os únicos autores que trataram da influência da luz sobre os melanóforos das formas muito jovens de peixes. Nestas, a reação é inversa a dos adultos, i. é, em presença da luz há dispersão nos melanóforos. Duspiva assinalou também que o escuro provoca concentração. Segundo esses resultados, a concentração e a dispersão melancólica são dependentes não só da luz como da idade dos peixes; nas formas muito jovens há dispersão e nos adultos, concentração do pigmento dos melanóforos em presença do referido excitante. Em tal fenômeno, em que se nota o antagonismo entre o comportamento dos melanóforos nos jovens e nos adultos, é preponderante o papel dos olhos. von Frisch, por exemplo, nada obteve pela iluminação de larvas de trutas cegas.

Tal reação inversa observada por Wenckebach e Duspiva também existe nos meus animais. No meu material, porém, cumpre dizer, o ambiente cinzento sempre se revelou mais eficazmente concentrador que o escuro.

Duspiva não atribuiu a uma diferença de inervação dos melanóforos dos embriões e formas jovens de *Salsalvulus* esta curiosa inversão de reação em presença da luz, porquanto, tal como nos adultos, eles possuem também (p. 579) dupla inervação (simpática e parasimpática), como foi por ele histologicamente demonstrado. É possível que *Hoplis* também esteja nesse caso. Se tal se der, somente futuras pesquisas talvez poderão

esclarecer essa curiosa inversão do comportamento dos melanóforos nas formas jovens dos peixes em comparação com o dos adultos.

O substrato, como tem sido estabelecido, é de grande importância na ativação dos melanóforos de peixes adultos. O negro provoca dispersão e o claro ou iluminado por baixo, a concentração do pigmento dos referidos cromatóforos. Para as formas jovens é ainda em Duspiva (l. c., pp. 563-570) que encontro o único dado disponível segundo o qual, em *Salsalvelinus* e em *Pluviatilis*, o substrato não tem a menor influência sobre a ativação dos melanóforos. Como se pode inferir das tabelas III, IV e V, num caso apenas de um exemplar de 7 mm. obtive levíssima concentração em ambiente negro iluminado por cima. Esse resultado, porém, quando muito poderá servir de indício de que em traíras muito jovens existe reação ao substrato. Todavia, com exemplares de 10-11 mm. registrou-se forte dispersão em substrato negro, não alterando nem o branco nem o cinzento sensivelmente o aspeto dos melanóforos; comportaram-se, pois, tal como os adultos. Quero crer que tal fato tenha corrido por conta do grau de desenvolvimento das traíras (10-11 mm.). Os melanóforos destas, de fato, já mostravam reações típicas das formas adultas. Por exemplo, antes da experiência, quando as traíras estavam em aquário exposto à luz solar difusa, os melanóforos estavam em nítida dispersão.

Além dos fatores luz e substrato, também substâncias químicas provocam a ativação do pigmento nos melanóforos. Assim, a acetilcolina, tida pelos modernos pesquisadores como a via de que se servem as terminações nervosas para atuar sobre as referidas células (Parker l. c., p. 167), dispersando-lhes o pigmento, determinou em *Hmalabaricus* (Tabela VIII), de fato, dispersão melanofórica. Tal resultado concorda com os de Duspiva (l. c., p. 578) obtidos em *Salmosalvelinus* numa fase de vida muito próxima da dos meus animais.

Por sua vez, a ergotamina causou dispersão melanofórica nas traíras experimentadas intatas. Esta droga, porém, não tem ação sobre os melanóforos de um fragmento de cauda mantido em sol. 0,07% de NaCl ou sobre os de uma região caudalmente situada a uma secção da medula. Tal ação da ergotamina é objeto de discussão por parte dos pesquisadores e uma unidade de vistas está longe de ser alcançada. Os autores que concordam quanto à ação dispersora da substância sobre os melanóforos estão em maioria, mas, mesmos esses divergem acerca do modo de atuação da droga. Entre os que a empregaram em peixes adultos, destaca-se Giersberg (l. c., p. 263) que, isoladamente, opina pela ação direta da ergotamina sobre os melanóforos, concentrando-lhes o pigmento. Duspiva (l. c., p. 577-579), em embriões e formas jovens, igualmente, obteve concentração melanofórica. Pela equivalência de idade entre o meu material e o deste últi-

mo autor, as observações do mesmo muito se prestam a um confronto com as registradas na presente pesquisa. Esse autor, gotejando o "Gynergène" sobre um fragmento de cauda mantido em solução isotônica de NaCl, obteve em *Salmo salvelinus* concentração melanofórica, resultado que, com técnica análoga, não obteve nas traíras experimentadas. Em indivíduos com sacos vitelinos previamente extirpados, Duspiva, pelo mesmo processo do gotejamento do "Gynergène" anotou mais uma vez concentração pigmentar nos melanóforos. Os resultados de minhas experiências (tabs. IX e X) em que os animais foram mantidos em soluções de tartrato de ergotamina a 0,01% e 0,05% são contrários, i. é, houve dispersão melanofórica.

É sabido que a regulação da atividade melanofórica não é a mesma em todos os peixes. Parker em 1936 resumiu o estado das pesquisas até então sobre o assunto, e, posteriormente numerosos trabalhos sobre a fisiologia dos melanóforos dos peixes foram publicados. Mas, relativamente à regulação mencionada, o que se tem assente até hoje é que há casos em que os melanóforos são controlados por dupla inervação (uma para concentração e outra para dispersão do pigmento), outros em que um só dos dois processos está sujeito ao controle nervoso e, finalmente, outros ainda em que apenas existe regulação hormonal. Assim, por exemplo, *Fundulus heteroclitus* possui duplo controle nervoso, em *Mustelus* somente a concentração está sujeita à inervação e na lampreia, como nos anfíbios, há somente regulação hormonal (Parker 1936, p. 365). Não me foi possível a obtenção de dados sobre o tipo de inervação dos melanóforos de *Hoplis malaricus*. Quero crer, porém, que na experiência em que se fez atuar a ergotamina sobre fragmento de cauda mantido em solução fisiológica estavam os melanóforos fóra de qualquer influência nervosa, valendo pois o resultado como prova de que a droga não atua sobre os referidos cromatóforos quando desinervados. Quanto aos resultados das experiências com animais operados, com base em von Frisch (l. c., p.p. 333-337), há também fortes indícios de que a secção medular tenha operado a desinervação dos melanóforos posteriormente à mesma. Como, no caso, foi mantida a circulação, os resultados falam ainda mais em favor da opinião de Parker de que a ergotamina não tem ação sobre os melanóforos desinervados.

Em resumo:

1. Formas jovens de *Hoplis malaricus* dispersam o pigmento dos melanóforos em presença da luz. Comportam-se, assim, de modo inverso ao dos peixes adultos em geral.

2. Um exemplar de 7 mm., mantido em ambiente negro iluminado por cima, apresentou levíssima concentração melanofórica. Exemplares de 10-11 mm. dispersaram fortemente o pigmento dos melanóforos quando colocados

sôbre fundo negro, comportando-se, portanto, como os adultos dos peixes em geral.

3. A acetilcolina dispersa o pigmento dos melanóforos de *H. malabaricus* tal como o faz nos demais peixes.

4. A ergotamina tem ação pigmento-dispersora em melanóforos inervados de traíras jovens. Este fato não está em concordância com o estabelecido por Duspiva em exemplares de *Salmo salvelinus* de idade equivalente, onde este autor observou concentração melanofórica pela ergotamina.

5. Fragmentos de cauda de *H. malabaricus* mantidos em solução a 0,07% de NaCl e submetidos à ação da ergotamina, não mostraram qualquer reação por parte dos melanóforos.

6. A ergotamina revelou-se ainda inativa com relação a melanóforos situados numa região posterior a uma secção da medula a 1 mm. da ponta da cauda. Tal região foi mantida em boas condições de circulação. Com o seccionamento, pretendeu-se ter obtido a desinervação dos melanóforos referidos. Este resultado vem em apoio ao ponto de vista de Parker sôbre a inatividade da ergotamina relativamente a melanóforos desinervados e é contrário ao de Bacq, que pretende agir a droga sôbre os melanóforos em questão.

E.

Summary

Some experiments were performed in order to determine the influence of several excitants on the melanophores of young *Hoplias malabaricus* the well known Brazilian fish "Traira". The most of the experiments were carried on exemplars measuring 6-8 mm. and melanophore behaviour towards light, background, acetylcholine and ergotamine was tested. To estimate the state of dispersion or concentration of the melanophore pigment, indexes from I to V were chosen, I for maximal dispersion and V for maximal concentration, according to Sawaya (1939, p. 62) in his studies on the color change in Crustaceans.

To test light influence, the fish larvae were firstly observed in watch-glasses containing pond water and exposed to difuse sun light. Their melanophore pigment was always in maximal dispersion. Afterwards the animals were placed in gray and dark ambients made up by two watch glasses one covering the other and whose convex surfaces were conveniently pain-

ted. In both ambients pigmental concentration was registered. It was also noted that the gray ambient was more effective than the dark. In adult fishes (see Bacq 1933, p. 387-388; Parker 1941, p. 358, etc.) light causes concentration of the melanophore pigment. In young ones, Wenckebach (1866, p. 240) and Duspiva (1931, p.p. 563-570) observed inverse reaction towards the same excitant, i. é, melanophoric dispersion. My results agree with these ones and it can be said that also young *Hoplias malabaricus* has a curious inverse reaction to light.

It is well known that in adult fishes the black background induces melanophoric dispersion. In young *Salmo salvelinus* and *Perca fluviatilis* Duspiva (l. c., p. 568) could not detect any melanophoric reaction towards black background. In my experiments an exemplar 7 mm long responded to a black background by a very light concentration of their melanophore pigment, nevertheless specimens 10-11 mm long on the same background dispersed the pigment. This reaction, however, similar to that of adult fishes, indicates better that the 10-11 mm long *Hoplias malabaricus* already respond to background in the adult way.

Acetylcholine chloride when employed in 1×10^{-2} solution, causes melanophore dispersion in young *H malabaricus*. This result agrees with many other authors' researches.

Ergotamine tartrate ("Gynergène" Sandoz) has recently been used by Parker (1941, pp. 164-166) in *Ameiurus nebulosus* when this author refuted Bacq's conclusions (1933, pp. 388) concerning the action of ergotamine on denervated melanophores. Parker admits that ergotamine is only an indirect excitant of innervated melanophores by inducing them to disperse their pigment. In young *Salmo salvelinus* Duspiva (l. c. pp. 577-579) observed melanophoric concentration with ergotamine. Dropping "Gynergène" in an isotonic solution of NaCl containing tail fragments of young *Salmo salvelinus* Duspiva registered also concentration of the melanophore pigment. Young *H malabaricus* submerged in solutions of 0,01% and 0,05% of ergotamine tartrate showed melanophore dispersion instead of concentration as observed by Duspiva in *Salvelinus*. By dropping "Gynergène" in a 0,07% NaCl solution containing tail fragments of young *H malabaricus* no reaction was detected in the melanophores. This experiment indicates that ergotamine has no action on denervated melanophores, according to Parker's point of view. In animals whose spinal cord was cut one millimeter before the tail tip, ergotamine tartrate was seen to be unable to activate the pigment in the melanophores of the region posterior to the cut. Based on von Frisch's work (1911, pp. 333-337) there is some reason to suppose that those melanophores we-

re denervated by the operation. In this case the circulations in the denervated region was preserved. This experiment also produces evidence of the inalterability of denervated melanophores by ergotamine.

F.

Bibliografia

- BACQ, Z. M. 1933, The action of ergotamine on the chromatophores of the catfish (*Ameiurus nebulosus*). Biol. Bull. v. 65, n.º 3, pp. 387-388. Lancaster, Pa.
- DUSPIVA, F. 1931, Beiträge zur Physiologie der Melanophoren von Fischembryonen. Akademie der Wissenschaften in Wien. Mathematik-naturwiss. Klasse, Abteil. I, v. 140, c. 7, pp. 553-596, t. 9. Wien.
- V. FRISCH, K. 1911, Beiträge zur Physiologie der Pigmentzellen in der Fischhaut. Pflüger's Archiv f. d. gesam. Physiol., v. 138, f. 6-9, pp. 319-387, t. 1-5. Berlin.
- GIERSBERG, H. 1933, Der Farbwechsel der Fische. Zeitschrift. vergl. Physiologie, v. 13, f. 2, pp. 258-279. Berlin.
- PARKER, G. H. 1936, Neurohumor controlling Chromatophores. Cold Spring Harbour Symposia on Quantitative Biology vol. IV, pp. 358-370. Cold Spring Harbour, L. I. New York.
- 1941, The response of catfish melanophores to ergotamine. Biol. Bull., v. 81, n.º 2, pp. 163-167. Lancaster, Pa.
- SAWAYA, P. 1939, Sobre a mudança de cor nos crustáceos. Bol. Fac. Phil. Sc. e Letras, XIII, Zoologia n.º 3, pp. 3-109. S. Paulo.
- 1942, The tail of a fish larva as respiratory organ. Nature, n.º 3771, p. 169. London.
- SPAETH, R. & BARBOUR, H. G. 1917, The action of epinephrin and Ergotoxin upon single, physiological isolated cells. Journ. Pharm. Exp. Therapeutics, v. 9, pp. 431-440. Baltimore.
- WENCKEBACH, K. F. 1886, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Knochenfische. Arch. f. mikroskop. Anat. u. Entwickl.-Gesch., 28, pp. 225-250, t. XVI e XVII. Bonn — Berlin.

